

# 大鼠眶额叶 GABA 及其 B 型受体在应激性抑郁行为发生中的作用及其影响机制

谷朝阳, 安书成\*

(陕西师范大学 生命科学院, 陕西 西安 710062)

**摘要:** 为了探讨眶额叶(orbital frontal cortex, OFC)GABA 及其 B 型受体在应激性抑郁行为发生中的作用及其影响机制, 实验采用强迫游泳方法建立急性应激抑郁模型。在 OFC 区 微量注射  $\gamma$ -氨基丁酸( $\gamma$ -aminobutyric acid, GABA)及其 B 型受体阻断剂, 通过开场实验、强迫游泳方式检测动物行为学表现, 用免疫组织化学染色和 Western blotting 方法检测 OFC 区 Kalirin 表达, 用高尔基染色法观察锥体细胞树突和树突棘。结果显示: 强迫游泳应激引起动物抑郁样行为表现, 同时, OFC 区 Kalirin 阳性颗粒数及表达量显著减少, 且锥体细胞树突棘密度下降; OFC 区微量注射 GABA 具有抗抑郁效应, 使 OFC 区 Kalirin 表达显著升高, 锥体细胞树突棘密度增加; GABA-B 型受体阻断剂 CGP35348 可以抑制 GABA 的这种效应。由此可见, 通过强迫游泳应激诱发的抑郁样的行为变化与 OFC 区 Kalirin 表达减少和神经元树突棘密度降低有关, GABA 可能通过 GABA-B 型受体增加 OFC 区 Kalirin 表达, 以防止神经元退行性变化而产生抗抑郁作用。

**关键词:** 强迫游泳; 抑郁症; 应激; Kalirin-7;  $\gamma$ -氨基丁酸; 树突棘

中图分类号: Q42; R749.72 文献标志码: A 文章编号: 0254-5853-(2011)03-0329-08

## Rat orbital frontal (orbital frontal cortex, OFC) GABA B receptor mechanisms in stress and depression

GU Chao-Yang, AN Shu-Cheng\*

(College of Life Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

**Abstract:** Stress-induced depression is a kind of functional and structural disability of the brain and involves many neurotransmitters and regions of the brain. A number of studies suggest involvement of  $\gamma$ -Aminobutyric acid (GABA) in the orbital frontal cortex (OFC) in the mechanism of stress-associated depression-like behavior in rodents. However, little work has been done on the relationship between GABA and neural plasticity of the OFC under stress. Here we examine the effect of the GABA in the OFC during acute forced swim stress (FSS). We found remarkable depression-like behavior in FSS and an open field test (OFT), and we observed a marked decrease in Kalirin-7 expression and the basal dendritic spine density of layer V pyramidal neurons in OFC after FSS. GABA administration reversed these changes, which were inhibited by CGP35348, an antagonist of GABA-B receptors. These results suggest an anti-depression effect of GABA in the OFC, which may be mediated by GABA-B receptor. The anti-depression effect of GABA is related to the plasticity of the dendritic spine density. This discovery may be helpful in the development of new therapies to treat depression.

**Key words:** Forced swimming; Depression; Stress; Kalirin-7; GABA; Spine

抑郁症是情感性精神障碍的主要类型, 随着社会竞争与工作和生活压力的增加, 其发病率有逐年升高趋势, 国际卫生组织已将其列为影响人类健康最严重的十大疾病之一。有关抑郁症发病机制的研

究也已受到广泛的关注。Jayatissa et al(2008)研究表明, 应激是诱发抑郁症的重要因素之一, 应激诱发抑郁涉及到额叶、海马、杏仁核、腹侧背盖区等多个脑区及核团。眶额叶(orbital frontal cortex, OFC)

收稿日期: 2010-08-23; 接受日期: 2011-01-19

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(GK200901011)

\*通讯作者(Corresponding author), E-mail: shuchengan@snnu.edu.cn

第一作者简介: 谷朝阳, 男, 博士研究生, 主要从事神经生理学方面的研究

作为前额叶的一个重要区域,与情绪、认知功能密切相关。然而,关于 OFC 与抑郁发生的研究却相对较少。Bremner et al (2002)研究提示, OFC 在抑郁行为产生中也具有重要作用。抑郁症患者表现出行为上认知能力的缺陷及决策判断力的下降或异常,且多数老年患者 OFC 体积变小,神经元萎缩。对抑郁症的某些药物和心理治疗可以改善抑郁患者 OFC 退化性变化(Castren & Rantamaki, 2010; Altema et al, 2010; Bremner et al, 2002)。这些结果提示 OFC 参与了抑郁的发生。目前关于抑郁发生与抗抑郁的神经机制研究提出了单胺类递质与受体失调学说、谷氨酸及其受体学说、神经可塑性学说等多种解释,而对于  $\gamma$ -氨基丁酸( $\gamma$ -aminobutyric acid, GABA)的研究相对较少。有研究显示,抑郁发生与脑脊液和血液 GABA 水平下降相关;也有研究显示, GABA 的不同受体在抑郁发生与抗抑郁中的作用不同(Chu & Hablitz, 2003; Drugan, et al, 1989; Feng et al, 2006; Kita et al, 2006; Kosel et al, 2004; Wang et al, 2003), GABA-B 受体敲除有抗抑郁效应(Mombereau et al, 2004),且 B 型受体激活可能影响其他与抑郁相关的神经递质,并且 GABA-B 受体的行为效应存在较大区域差异(Cryan & Kaupmann, 2005)。总之, GABA 与抑郁发生的具体机制仍未明确。GABA 是一种在 OFC 广泛分布的重要神经递质,参与了焦虑和抑郁等精神障碍的形成。由于目前研究较少,且临床研究和实验研究结果尚有不一致之处。因此, OFC 区 GABA 及其 B 受体与抑郁发生的具体机制,以及应激是否通过 GABA 改变神经元形态而诱发抑郁等还都不清楚。Kalirin-7 是位于树突棘上,与神经元结构、树突棘形态有重要关系的因子。Kalirin-7 表达变化与神经元形态结构可塑性变化密切相关。因此,我们通过强迫游泳应激,建立急性

应激性抑郁模型,探讨 OFC 区 GABA 及其 B 型受体与应激性抑郁发生的关系,以及 GABA 是否经 B 型受体,通过 Kalirin-7 影响或调节神经元形态,尤其是树突和树突棘而发挥抗抑郁作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物及分组

雄性 SD 大鼠(220 ~ 250 g)40 只,购自陕西省中医研究院动物中心。自由进水进食。环境温度和湿度维持在(22  $\pm$  1) 和(52  $\pm$  2)%,动物饲养于 12/12 h 明暗周期环境。

动物分为 4 组:对照组(control)、15 min 强迫游泳组(saline)、GABA 微量注射组(GABA 组),以及 CGP35348 和 GABA 微量注射组(CGP 组)。动物在实验前适应环境 7 d,每天抚摸 5 min。

### 1.2 主要试剂

GABA、CGP35348 购于美国 Sigma 公司, Kalirin-7 抗体由美国康涅狄格州大学赠送, SABC 试剂盒和 DAB 试剂盒均为武汉博士德生物技术工程有限公司产品。

### 1.3 方法

1.3.1 脑定位与微量注射 大鼠用戊巴比妥钠腹腔注射麻醉(40 mg/kg),俯卧位固定于 WDT- 型立体定位仪(美国, Stoelting),参照 Paxinos & Watson 大鼠脑图谱,按照定位程序,向 OFC(AP 3.7 mm, RL 2.4 mm, H3.5 mm)(图 1)植入带有内芯的不锈钢套管作为微量注射通道,以牙科水泥固定,外层用牙托粉加固,完成后将动物保持在(30  $\pm$  2) 温暖环境直至苏醒。手术后每日腹腔注射 2 万单位盘尼西林,持续 3 d,自由进食饮水。手术后,恢复至少一周。每组动物均进行两次注射,间隔时间均为 10 min。control 组和 saline(15 min 强迫游泳)组

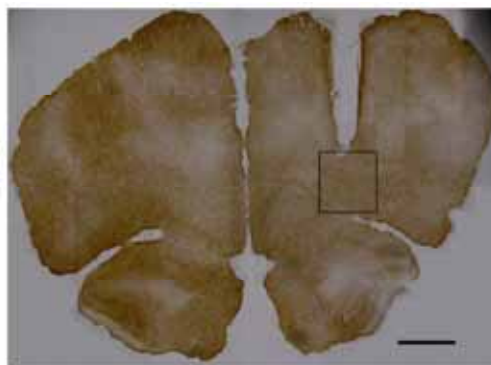
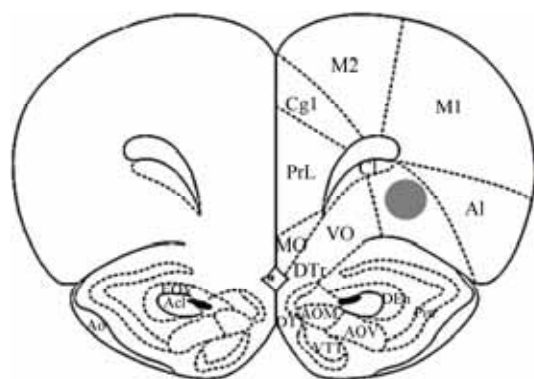


图 1 微量注射位置示意图(标尺: 2 000  $\mu$ m)  
Fig. 1 Microinjection site (Scale bar, 2 000  $\mu$ m)

注射两次生理盐水(0.5  $\mu$ L/次); GABA 组注射 0.5  $\mu$ L 生理盐水后,再注射 0.5  $\mu$ L GABA(20 mg/mL); CGP 组先注射 0.5  $\mu$ L GABA(20 mg/mL)后,注射 0.5  $\mu$ L CGP35348(40 mg/mL)。所有注射在行为测试前 30 min 进行,手动注射速度为 0.5  $\mu$ L/min,注射完成后停针 1 min,使药物充分吸收。

**1.3.2 强迫游泳模型** 如 Porsolt et al (1977)所描述,动物放入一个透明水缸(40 cm 高,直径 20 cm),缸内水深为(31.5  $\pm$  1.5)cm,水温为(24  $\pm$  0.5)  $^{\circ}$ C,水面距缸上缘 10 cm,保证动物在缸内游泳时身体不会支撑在缸底面。除 control 组动物外,其他组均在脑定位手术后第 8 d 进行 15 min 强迫游泳预备游,用秒表记录前 10 min 内,动物不动时间,若持续不动或持续攀爬则弃去不用。24 h 后进行上述微量注射和正式 FST 实验。

## 1.4 行为实验

**1.4.1 开场实验** 所有行为测试在上午 7 点到 11 点之间在暗光环境进行。实验前将动物放置于行为测试室,至少 1 h 适应环境。实验装置大小规格为 60 cm  $\times$  60 cm  $\times$  40 cm,四周和底面均为黑色,底面以淡色线分为 25 个 12 cm  $\times$  12 cm 小格。每只动物测试时放入开场中央适应 30 s,然后用摄像头记录 5 min 时间内的动物总穿越格数,即水平运动(locomotor activity)、站立(rearing)次数、修饰(grooming)次数以及中央格停留时间(central time)。每次测试后用 90%酒精擦干净测试箱,除去动物气味影响。

**1.4.2 强迫游泳测试** 手术后第 9 天,进行正式游泳测试,实验环境条件与预备游时相同。5 min 内,记录动物不动时间(immobility)以及攀爬(climbing),以动物不动时间作为判断抑郁严重程度的指标,并用数码摄像头记录视频;每只动物测试后清洗干净水缸,换水,避免对下一只动物的影响。

## 1.5 形态学及免疫学实验

**1.5.1 高尔基染色法观察神经元形态** 行为测试后两周,将动物(每组动物总数 1/3)麻醉,生理盐水灌注,取脑。将脑置于 Golgi-Cox 溶液中,置于黑暗,2 d 后置换于新 Golgi-Cox 溶液。浸泡 14 d 后将脑转入 30%蔗糖溶液中,室温中放置 3 d。在 6%蔗糖溶液中进行震动切片机切片,厚度 100  $\mu$ m。立刻铺片,依次用以下溶液浸染:蒸馏水、15%~30%氨水、酸性显影固定液、蒸馏水、梯度酒精和二甲苯。最后以中性树胶封片,光学显微镜(油镜 $\times$ 100)下观

察计数。每张脑片至少随机选取 5 个皮层锥体神经元,并根据以下特征选取:1)神经元位于 OFC 皮层第五层;2)神经元符合锥体神经元形态,在 10 倍物镜下应表现出整体浸染均匀;3)每个胞体至少发出 3 个基树突;4)未因染色而造成形变。对符合条件神经元进行照相记录。在计数统计中,记录同级分支树突单位长度上的树突棘个数。

**1.5.2 免疫组织化学法** 全部行为测试完成后,立刻对动物(每组动物总数 1/3)麻醉,依次用 0.1 mol/L PBS 和 4%多聚甲醛灌注、取脑,4%多聚甲醛中后固定 9 h,转入 30%蔗糖溶液,在 4  $^{\circ}$ C 下,静置 24 h,冰冻切片(40  $\mu$ m 厚),按照免疫组化步骤,依次进行抗体孵育和显色。

**1.5.3 Western blotting** 行为测试后,立刻麻醉动物(每组动物总数 1/3),取脑,根据大鼠脑图谱切出 OFC,每只动物称取相同重量右侧 OFC 组织,加入裂解液匀浆,4  $^{\circ}$ C 离心 5 min(1.2 万 r/min)取上清液。加入 5  $\times$  SDS 凝胶上样缓冲液,沸水煮 5 min,每孔上样 20  $\mu$ L(体积根据蛋白含量确定),进行 12%十二烷基磺酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)聚丙烯酰胺凝胶电泳,采用半干转膜法将蛋白转移至 PVDF 膜上, TBST 震荡洗涤 3 次,10 min/次;后用含 10%脱脂奶粉的 TBS 封闭 2 h; TBST 震荡洗涤 3 次(10 min/次);室温下一抗(1:500)孵育 1 h; TBST 震荡洗涤 3 次(10 min/次);二抗封闭 2 h(1:2000); TBST 震荡洗涤 4 次(10 min/次);采用化学发光法,暗室胶片显色。

## 1.6 数据统计与分析

使用 SPSS15.0 进行统计分析,结果以平均值  $\pm$  标准误表示。采用单因素方差分析和 Tukey post hoc 检验,以  $P < 0.05$  作为判断差异显著性的标准;取脑的过程中检测不锈钢套管植入位置,定位不正确者,相关数据弃去不用。

# 2 结 果

## 2.1 行为学结果

**2.1.1 强迫游泳测试结果** 单因素方差分析显示不同的处理对强迫游泳中不动时间( $F_{2,28} = 16.538$ ,  $P < 0.01$ )和攀爬时间( $F_{2,28} = 9.529$ ,  $P < 0.01$ )产生了具有显著差异的影响:相对生理盐水组,注射 GABA 显著增加了攀爬时间( $P < 0.01$ ),而 OFC 注射 CGP35348 反转了 GABA 的这种效应( $P < 0.05$ )(图 2B)。不动时间也表现出相类似的结果, GABA 显著

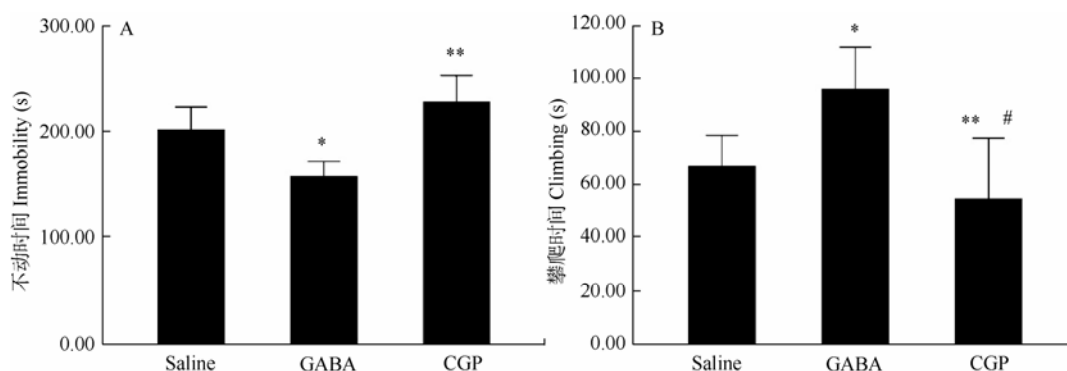


图2 Saline组、GABA组和CGP组强迫游泳测试中不动时间(A)和攀爬时间(B)

Fig. 2 Immobility(A) and the climbing time(B) in different treatment, saline, GABA and CGP35348

\*: GABA组与Saline组相比; \*\*: CGP组与GABA组相比; #: CGP组与Saline组相比 ( $P < 0.05$  单因素方差分析)。

\*: GABA vs. saline; \*\*: CGP35348 vs. GABA; #: CGP35348 vs. saline ( $P < 0.05$ , one-way ANOVA).

减少了不动时间, 而 CGP35348 抑制但未反转 GABA 对不动时间的减弱效应(图 2A)。

2.1.2 开场实验测试结果 单因素方差分析显示, 在水平运动行为、垂直运动、修饰行为和中央格停留时间等 3 个参数上, 3 组间表现出显著差异 (locomotor:  $F_{2, 30} = 14.57$ ,  $P < 0.05$ ; rearing:  $F_{2, 30}$

$= 5.58$ ,  $P < 0.01$ ; grooming:  $F_{2, 30} = 13.47$ ,  $P < 0.01$ ; central time:  $F_{2, 30} = 5.96$ ,  $P < 0.05$ )。相对于Saline组, GABA组明显增加了水平运动行为( $P < 0.05$ ) (图 3A)、垂直运动( $P < 0.05$ ) (图 3B)和修饰行为( $P < 0.05$ ) (图 3C), 同时, 减少了动物在中央格停留的时间( $P < 0.01$ ) (图 3D), 而注射 CGP35348 抑制了

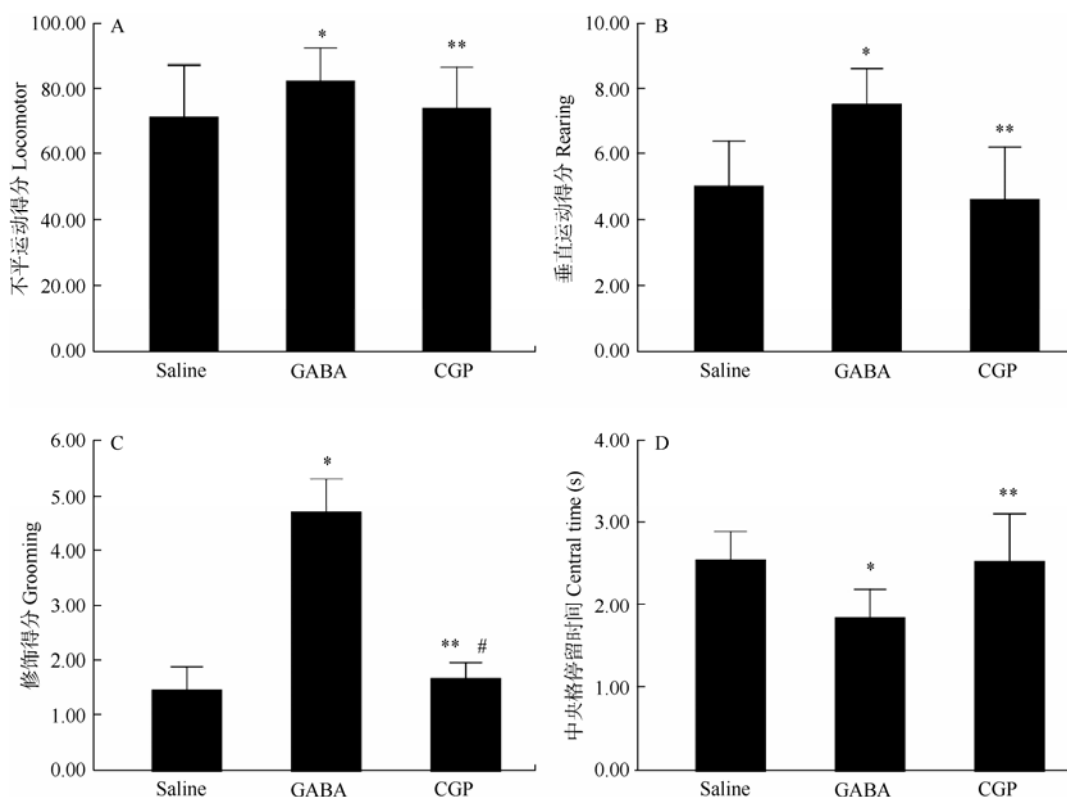


图3 开场实验中 Saline 组、GABA 组和 CGP 组的水平运动得分(A)、垂直运动得分(B)、修饰得分(C)和中央格停留时间(D)

Fig. 3 Result of different treatment saline, GABA and CGP35348 on (A) loco motor activity, (B) rearing, (C) grooming and (D) central time in open field test

\*: GABA组与Saline组相比; \*\*: CGP组与GABA组相比; #: CGP组与Saline组相比 ( $P < 0.05$ , 单因素方差分析)。

\*: GABA vs. saline; \*\*: CGP35348 vs. GABA; #: CGP35348 vs. saline ( $P < 0.05$ , one-way ANOVA).

GABA 在水平运动( $P < 0.05$ )(图 3A)和垂直运动行为( $P < 0.05$ )(图 3B)以及中央格停留时间( $P < 0.05$ )(图 3D)上的效应,同时,反转了 GABA 在修饰行为上的效应( $P < 0.01$ )(图 3C)。

2.2 树突棘密度变化

四组间在树突长度上未表现出显著差异(one-way ANOVA,  $F_{3,40} = 5.253$ ,  $P > 0.05$ )(表 1),但在树突棘密度上表现显著差异(one-way ANOVA,

$F_{3,40} = 7.232$ ,  $P < 0.05$ )(图 4A)。生理盐水组与空白对照组相比,树突棘密度显著减少( $P < 0.05$ )(图 4B),GABA 组相对于生理盐水组则表现出树突棘密度增大的趋势( $P < 0.05$ )(图 4B),而 CGP35348 组相对于 GABA 组树突棘密度较小( $P < 0.05$ ),但是与生理盐水组相比比较大,且差异显著( $P < 0.05$ )(图 4B),其减弱了 GABA 增加树突棘密度的效应。

表 1 四组大鼠眶额叶锥体神经元树突棘密度  
Tab. 1 Effect of four treatments on spine density of Pyramidal neurons in OFC

Spine density (number/ $\mu\text{m}$ ) 树突棘密度(个/ $\mu\text{m}$ )	Control	Saline	GABA	CGP35348
Basilar	0.45 $\pm$ 0.07	0.33 $\pm$ 0.010 *	0.41 $\pm$ 0.05**	0.40 $\pm$ 0.04***, #

\* : Saline 组与 Control 组相比; \*\* : GABA 组与 saline 组相比; \*\*\* : CGP 组与 GABA 组相比; # : CGP 组与 saline 组相比 ( $P < 0.05$ , 单因素方差分析)。  
\* : Saline vs. control; \*\* : GABA vs. saline; \*\*\* : CGP35348 vs. GABA; # : CGP35348 vs. saline ( $P < 0.05$ , one-way ANOVA)

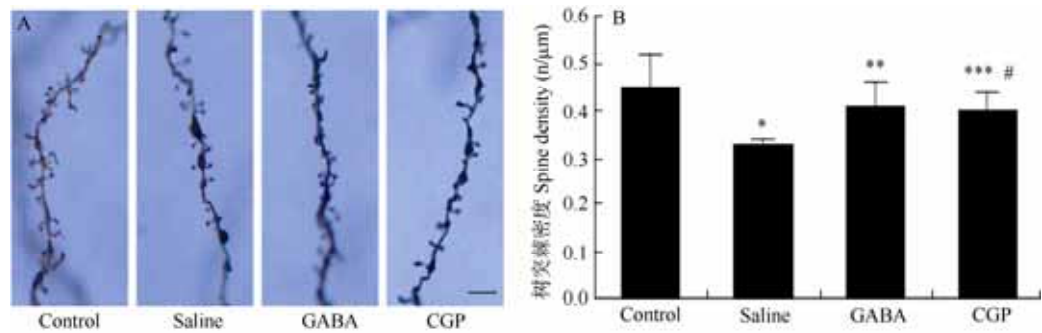


图 4 树突棘密度统计和显微照片 (标尺: 5  $\mu\text{m}$ )

Fig. 4 Result of spine density and the image (Scale bars, 5  $\mu\text{m}$ )

\* : Saline 组与 Control 组相比; \*\* : GABA 组与 saline 组相比; \*\*\* : CGP 组与 GABA 组相比; # : CGP 组与 saline 组相比 ( $P < 0.05$ , 单因素方差分析)。  
\* : Saline vs. control; \*\* : GABA vs. saline; \*\*\* : CGP35348 vs. GABA; # : CGP35348 vs. saline ( $P < 0.05$ , one-way ANOVA)

2.3 OFC 区 Kalirin-7 表达的变化

单因素方差分析显示免疫组化(图 5a、b、c、d)表现出组间显著性差异( $F_{3,40} = 24.572$ ,  $P < 0.05$ )。生理盐水组对应于 Control 组,则表现出 Kalirin-7 表达显著减少,而与 GABA 组相比, GABA 则显著增加了 Kalirin-7 的表达, CGP35348 则抑制了 GABA 对于 Kalirin-7 表达增加的效应。图 5e 显示了 OFC 免疫印迹的结果,表现出与免疫组织化学一致的结果。

3 讨论

关于抑郁症发生机制,人们已从神经递质、受体失调等方面提出了许多学说。但越来越多的证据表明,抑郁症是一种涉及到多种神经递质和脑区,以及神经环路的疾病,并且功能失调也与神经结构的变化密切相关。因此,本研究通过强迫游泳应激建立抑郁模型,探讨 OFC 区 GABA 及其 B 型受体在应激性抑郁发生中的作用以及应激、GABA 及其

B 型受体、神经元形态结构,尤其是树突棘变化与抑郁发生的关系。

3.1 OFC 与抑郁样行为

大量证据表明, OFC 可能与应激诱导的情绪失调有密切的联系。研究发现, OFC 损伤可能导致情绪失调中的负反馈反应障碍,多数抑郁症患者伴随有认知和判断及执行障碍。老年抑郁患者中多数也发现伴随有 OFC 退化(Bremner et al, 2002),如体积缩小、神经元减少等,尤其在男性患者中表现更多(Lavretsky et al, 2004);也有证据表明,局部的 OFC 损伤可导致声音、表情等出现异常化的情绪表现(Blair & Cipolotti, 2000; Hornak et al, 2003)。OFC 因与边缘区的广泛联系,发挥着抽象记忆等信息传递的枢纽作用,是前额叶的主要亚区之一, OFC 与基底杏仁核和伏隔核的联系,负责对未来预期和价值判断,从而引导决策和执行(Schoenbaum et al, 2006;



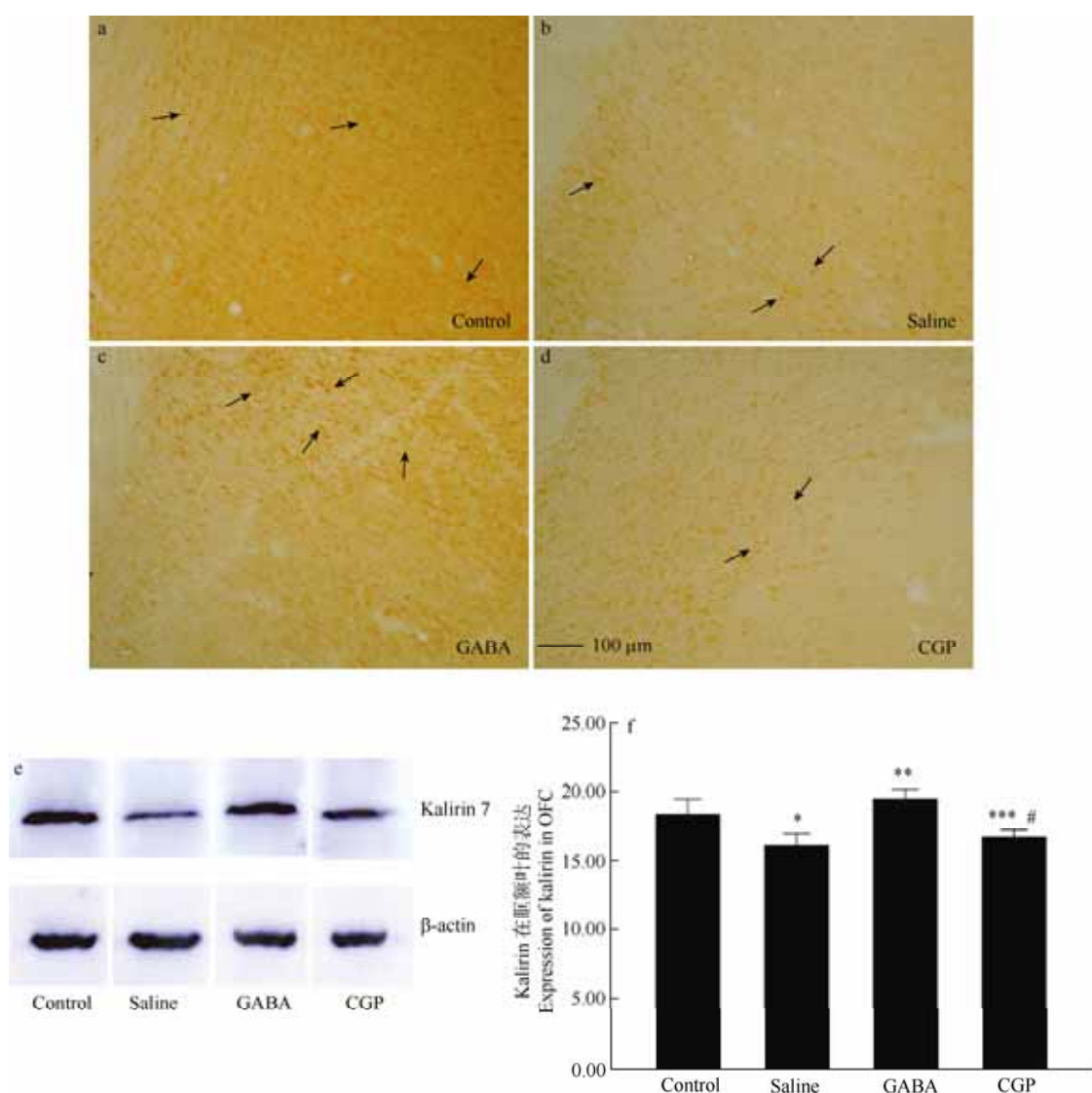


图5 免疫组织化学(a, b, c, d)与 Western blotting(e)显示各组眶额叶 Kalirin-7 的表达

Fig. 5 Expression of Kalirin-7 in orbital frontal cortex by immunohistochemistry(a, b, c, d) and western blotting(e)

\*: Saline 组与 Control 组相比; \*\*: GABA 组与 Saline 组相比; \*\*\*: CGP 组与 GABA 组相比; #: CGP 组与 Saline 组相比 ( $P < 0.05$ , 单因素方差分析)。

\*: Saline vs. control; \*\*: GABA vs. saline; \*\*\*: CGP35348 vs. GABA; #: CGP35348 vs. saline ( $P < 0.05$ , one-way ANOVA).

Elliott et al, 2010), 而抑郁症患者多数具有决策、执行的错位。在临床上广泛应用的抗抑郁药氟西汀可以恢复成年大鼠因应激而造成的视觉相关皮层的神经损伤。吗啡也可以增加前额叶由于应激而导致的树突棘密度减少。因此, OFC 与应激性情绪行为的关系应该予以关注。

### 3.2 OFC 区 GABA 及其 B 受体与抑郁样的行为及神经元形态学变化

研究显示, GABA 及其受体广泛分布于大脑皮层, 在 OFC 区, GABA 能神经元接受来自下丘脑的 GABA 能神经元发出的投射, 而下丘脑在应激反应中具有重要的作用。也有研究发现, OFC 区多巴胺

(Dopamine, DA) 与奖赏环路的联系受到诸多重视, 如部分药物成瘾可以被 OFC 区 DA 阻断剂治疗(You et al, 2001), GABA 在边缘系统与 DA 相互作用, 调节下丘脑垂体系统等区域(Racagni & Apud, 1982; Schiffer et al, 2001)。有关 GABA 受体与情绪行为的研究, 以往较多的关注 GABA-A 型受体, 并且已成为多种临床精神疾病药物的作用靶标; 但 GABA-B 受体虽然认为与多种精神疾病相关, 而相关报道相对就较少。GABA-B 型受体是 G 蛋白偶联受体, 通过 G 蛋白次级信息系统调节  $Ca^{2+}$  和  $K^{+}$  通道, 在突触前膜和后膜上的功能不同(Le Corrionc et al, 2002), 它还可通过降低细胞内 cAMP 的水平, 影响突触囊

泡的募集,从而导致多种神经或精神疾病,这已经得到学界公认。

以上研究结果提示, OFC 区 GABA 也可能直接或通过 DA 间接影响奖赏等情绪动机行为,而抑郁症的重要表现就是动机的缺失。但是, OFC 区 GABA 及其 B 受体在应激中的具体作用尚不清楚。抑郁的发生中, OFC 区 GABA-B 受体可能通过对其它神经递质或者受体的作用影响到神经传递,最终导致神经结构性损伤 (Racagni & Apud, 1982; Wang et al, 1990; Chen et al, 2005)。为了证明应激性抑郁发生中 GABA 及其 B 型受体与神经元退行性变化,尤其是神经元树突棘的变化关系,本研究以急性强迫游泳作为应激源,它是一种广泛使用的评价抗抑郁药疗效的模型,对很多抗抑郁药物敏感。强迫游泳之后,进行开场实验和强迫游泳测试以检测其快感缺失和行为绝望程度,并检测 OFC 锥体细胞树突棘变化。实验结果显示,大鼠强迫游泳应激之后,开场实验中站立和修饰次数减少,游泳不动时间增加,动物表现出明显的抑郁样的行为,且 OFC 锥体细胞树突棘密度也明显减少。这与以往一些案例研究发现,抑郁患者 OFC 变小并且伴随着 OFC 神经细胞凋亡的现象是一致的。而 OFC 微量注射 GABA 可以反转应激引起的行为学和神经形态学变化。GABA 抗应激性抑郁样的行为及其 OFC 锥体细胞树突棘减少的作用可以被 GABA-B 受体阻断剂所阻断,表明 OFC 区 GABA 抗抑郁作用通过 B 型受体实现的,同时也说明强迫游泳应激引起抑郁与 OFC 神经元退行性变化有关,而 GABA 抗抑郁与维持和保护神经元正常形态有关。

### 3.3 GABA 通过 B 受体影响树突棘密度和情绪行为与 Kalirin-7 有关

研究结果显示,强迫游泳应激导致神经元树突

棘减少, GABA 通过 B 型受体增加神经元树突密度。以往的研究证明, Kalirin 是一种 Dbl 家族的鸟苷酸交换因子,它从细胞骨架结构组织到轴突导向以及基因表达影响多种细胞的结构与功能,而 Kalirin-7 尤其在细胞骨架组织上具有重要作用,存在于多数哺乳动物中,定位于突触后致密成分中,与谷氨酸 NMDA 受体共存,与 PSD95 交互作用影响树突棘形态(Hansel et al, 2001; Ma et al, 2003; Sommer & Budreck, 2009)。通过 Kalirin 敲除小鼠证实, Kalirin 在神经元建构方面具有重要作用(Ma et al, 2008)。Kalirin 敲除小鼠表现出诸多精神分裂症状,比如运动行为减少,反应迟钝,并且 Kalirin 的存在是突触有活性的条件之一,而树突棘正是有活性突触形成的重要位点(Ma et al, 2010)。那么,强迫游泳应激导致神经元树突棘减少, GABA 抗抑郁与维持和保护神经元正常形态是否与 Kalirin-7 表达变化有关,为了证明这一点,我们检测了与神经元形态,尤其是神经元树突和树突棘密切相关的 Kalirin-7 表达变化。研究发现,强迫游泳应激引起大鼠抑郁样的行为, OFC 锥体细胞树突棘减少的同时, OFC 区 Kalirin-7 表达减少。微量注射 GABA, Kalirin-7 表达增加,神经元树突棘密度也增加,同时,也显著地改善了抑郁样行为。

综上所述,应激诱发抑郁可能与 OFC 区 Kalirin-7 减少和神经元退行性变化有关。OFC 微量注射 GABA 能产生抗抑郁效应,其中, OFC 区 GABA 抗抑郁效应经 B 型受体,促进 Kalirin-7 的表达,维持和保护神经元形态和功能正常是重要途径之一。

致谢:感谢美国 Connecticut 大学神经科学系马新明博士为本研究提供 Kalirin-7 抗体。

### 参考文献:

- Altena E, Vrenken H, Van Der Werf YD, van den Heuvel OA, Van Someren EJW. 2010. Reduced orbitofrontal and parietal gray matter in chronic insomnia: A voxel-based morphometric study. [J]. *Biol Psychiatry*, **67**(2), 182-185.
- Blair RJ, Cipolotti L. 2000. Impaired social response reversal. A case of 'acquired sociopathy'[J]. *Brain*, **123** (Pt 6): 1122-1141.
- Bremner JD, Vythilingam M, Vermetten E, Nazeer A, Adil J, Khan S, Staib LH, Charney DS. 2002. Reduced volume of orbitofrontal cortex in major depression[J]. *Biol Psychiatry*, **51**(4): 273-279.
- Castren E, Rantamäki T. 2010. The role of BDNF and its receptors in depression and antidepressant drug action: Reactivation of developmental plasticity[J]. *Dev Neurobiol*, **70**(5): 289-297.
- Chen Y, Phillips K, Minton G, Sher E. 2005. GABA(B) receptor modulators potentiate baclofen-induced depression of dopamine neuron activity in the rat ventral tegmental area[J]. *Br J Pharmacol*, **144**(7): 926-932.
- Chu Z, Hablitz JJ. 2003. GABA(B) receptor-mediated heterosynaptic depression of excitatory synaptic transmission in rat frontal neocortex[J]. *Brain Res*, **959**(1): 39-49.
- Cryan JF, Kaupmann K. 2005. Don't worry 'B' happy!: a role for GABA-B receptors in anxiety and depression[J]. *Trends Pharmacol Sci*, **26**(1): 36-43.
- Drugan RC, Morrow AL, Weizman R, Weizman A, Deutsch SI, Crawley JN,

- Paul SM. 1989. Stress-induced behavioral depression in the rat is associated with a decrease in GABA receptor-mediated chloride ion flux and brain benzodiazepine receptor occupancy[J]. *Brain Res*, **487**(1): 45-51.
- Elliott R, Agnew Z, Deakin JF. 2010. Hedonic and informational functions of the human orbitofrontal cortex[J]. *Cereb Cortex*, **20**(1): 198-204.
- Feng HJ, Kang JQ, Song L, Dibbens L, Mulley J, Macdonald RL. 2006. subunit susceptibility variants E177A and R220H associated with complex epilepsy alter channel gating and surface expression of  $\alpha 4 \beta 2$  GABAA receptors[J]. *J Neurosci*, **26**(5): 1499-1506.
- Hansel DE, Quinones ME, Ronnett GV, Eipper BA. 2001. Kalirin, a GDP/GTP exchange factor of the Dbl family, is localized to nerve, muscle, and endocrine tissue during embryonic rat development[J]. *J Histochem Cytochem*, **49**(7): 833-844.
- Hornak J, Bramham J, Rolls ET, Morris RG, O'Doherty J, Bullock PR. 2003. Changes in emotion after circumscribed surgical lesions of the orbitofrontal and cingulate cortices[J]. *Brain*, **126**(Pt 7): 1691-1712.
- Jayatissa MN, Bisgaard CF, West MJ, Wiborg O. 2008. The number of granule cells in rat hippocampus is reduced after chronic mild stress and re-established after chronic escitalopram treatment. [J]. *Neuropharmacology*, **54**(3), 530-541.
- Kita H, Chiken S, Tachibana Y, Nambu A. 2006. Origins of GABA(A) and GABA(B) receptor-mediated responses of globus pallidus induced after stimulation of the putamen in the monkey[J]. *J Neurosci*, **26**(24): 6554-6562.
- Kosel M, Rudolph U, Wielepp P, Luginbuhl M, Schmitt W, Fisch HU. 2004. Diminished GABA(A) receptor-binding capacity and a DNA base substitution in a patient with treatment-resistant depression and anxiety[J]. *Neuropsychopharmacology*, **29**(2): 347-350.
- Lavretsky H, Kurbanyan K, Ballmaier M, Mintz J, Toga A, Kumar A. 2004. Sex differences in brain structure in geriatric depression[J]. *Am J Geriatr Psychiatry*, **12**(6): 653-657.
- Le Corrone H, Alix P, Hue B. 2002. Differential sensitivity of two insect GABA-gated chloride channels to dieldrin, fipronil and picrotoxinin[J]. *J Insect Physiol*, **48**(4): 419-431.
- Ma XM, Huang JP, Wang YP, Eipper BA, Mains RE. 2003. Kalirin, a multifunctional Rho guanine nucleotide exchange factor, is necessary for maintenance of hippocampal pyramidal neuron dendrites and dendritic spines[J]. *J Neurosci*, **23**(33): 10593-10603.
- Ma XM, Huang JP, Kim EJ, Zhu Q, Kuchel GA, Mains RE, Eipper BA. 2010. Kalirin-7, an important component of excitatory synapses, is regulated by estradiol in hippocampal neurons[J]. *Hippocampus*, Article first published online: 23 Mar 2010
- Ma XM, Wang Y, Ferraro F, Mains RE, Eipper BA. 2008. Kalirin-7 is an essential component of both shaft and spine excitatory synapses in hippocampal interneurons[J]. *J Neurosci*, **28**(3): 711-724.
- Mombereau C, Kaupmann K, Froestl, Sansig WG, van der Putten H, Cryan JF. 2004. Genetic and pharmacological evidence of a role for GABA(B) receptors in the modulation of anxiety- and antidepressant-like behavior[J]. *Neuropsychopharmacology*, **29**(6): 1050-1062.
- Porsolt RD, Pichon ML, Jalfre M. 1977. Depression: a new model sensitive to the antidepressant treatment[J]. *Nature*, **266**(5604): 730-742.
- Racagni G, Apud JA. 1982.  $\gamma$ -Aminobutyric acid (GABA) and dopamine (DA) interactions in the hypothalamo-pituitary system; physiological and functional role in prolactin secretion[J]. *Acta Physiol Pharmacol Bulg*, **8**(1-2): 13-23.
- Schiffer WK, Gerasimov M, Hofmann L, Marsteller D, Ashby, CR Brodie JD. 2001. vinyl-GABA differentially modulates NMDA antagonist-induced increases in mesocortical versus mesolimbic DA transmission[J]. *Neuropsychopharmacology*, **25**(5): 704-712.
- Schoenbaum G, Roesch MR, Stalnaker TA. 2006. Orbitofrontal cortex, decision-making and drug addiction[J]. *Trends Neurosci*, **29**(2): 116-124.
- Sommer JE, Budreck EC. 2009. Kalirin-7: linking spine plasticity and behavior[J]. *J Neurosci*, **29**(17): 5367-5369.
- Wang J, Liu S, Haditsch U, Tu W, Cochrane K, Ahmadian G. 2003. Interaction of calcineurin and type-A GABA receptor  $\alpha 2$  subunits produces long-term depression at CA1 inhibitory synapses[J]. *J Neurosci*, **23**(3): 826-836.
- Wang Y, Kao MC, Lee HK. 1990. Facilitation of GABA-induced depression with PCP and  $\alpha$  receptor agonists was mediated through catecholaminergic pathways[J]. *Life Sci*, **47**(22): PL121-126.
- You ZB, Chen YQ, Wise RA. 2001. Dopamine and glutamate release in the nucleus accumbens and ventral tegmental area of rat following lateral hypothalamic self-stimulation[J]. *Neuroscience*, **107**(4): 629-639.